

Aus dem Veterinär-Anatomischen Institut der Universität Zürich
(Direktor: Prof. Dr. J. Frewein)

Arbeit unter der Leitung von Dr. P. Wild

Cytomorphometrische Untersuchungen an der Glandula parathyreoidea
von Ratten nach Applikation von Vitamin D₃

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der Veterinär-Medizinischen Fakultät
der Universität Zürich

vorgelegt von

SUSANNA GLOOR

Tierärztin

von Zofingen (AG)

Genehmigt auf Antrag von

Prof. Dr. J. Frewein, Referent

Prof. Dr. E. Jenny, Korreferent

1982

Aus dem Veterinär-Anatomischen Institut der Universität Zürich
(Direktor: Prof. Dr. J. Frewein)

Arbeit unter der Leitung von Dr. P. Wild

Cytomorphometrische Untersuchungen an der Glandula parathyreoidea
von Ratten nach Applikation von Vitamin D₃

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der Veterinär-Medizinischen Fakultät
der Universität Zürich

vorgelegt von

SUSANNA GLOOR

Tierärztin

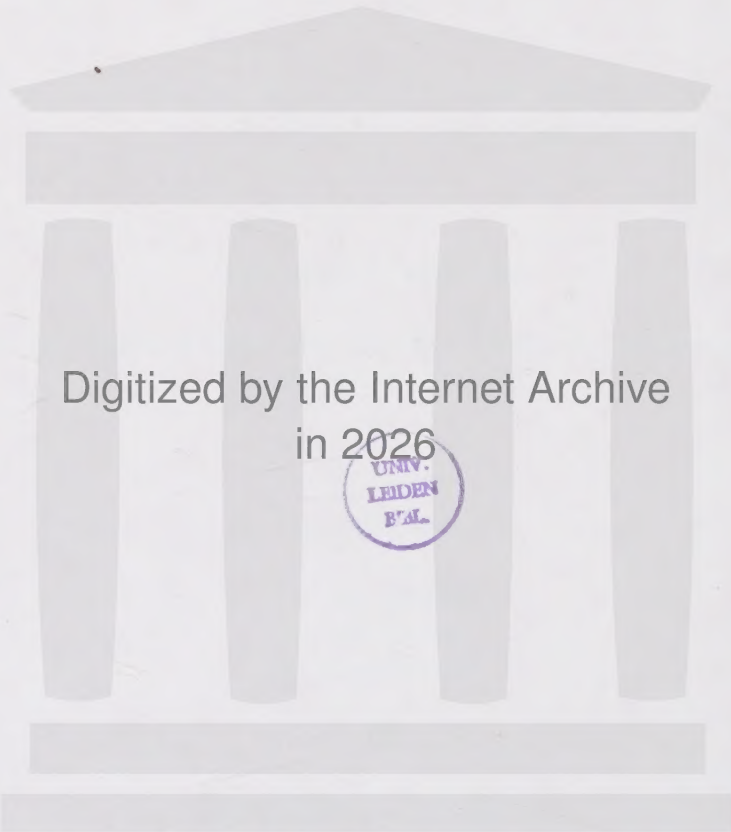
von Zofingen (AG)

1981

Genehmigt auf Antrag von

Prof. Dr. J. Frewein, Referent

Prof. Dr. E. Jenny, Korreferent



Digitized by the Internet Archive
in 2026



INHALTSVERZEICHNIS

1.	EINFUEHRUNG	6
1.1.	Glandula parathyreoidea	6
1.1.1.	Regulation der Parathormon-Sekretion	6
1.1.2.	Biosynthese von Parathormon	7
1.1.3.	Korrelation zwischen dem Aktivitätszu- stand und der morphologischen Erscheinungs- form der Parathyreoideazellen	8
1.2.	Vitamin D ₃	8
1.2.1.	Wirkungen von Vitamin D ₃	8
1.2.2.	Herkunft und Metabolismus von Vitamin D ₃	9
1.3.	Einfluss von Vitamin D ₃ auf die Glandula para- thyreoidea	10
1.3.1.	Einfluss von Vitamin D ₃ auf die Parathormon- Sekretion	10
1.3.2.	Einfluss von Vitamin D ₃ auf die Morphologie der Glandula parathyreoidea	11
1.4.	Zielsetzung	12
2.	MATERIAL UND METHODE	13
2.1.	Tiere und Versuchsanordnung	13
2.2.	Entnahme von Blutproben und Bestimmung des Serum- Kalziums	14
2.3.	Tötung der Tiere und Präparation der Glandulae parathyreoideae	14
2.4.	Präparation der Glandulae parathyreoideae für die elektronenmikroskopische Untersuchung	15
2.5.	Morphometrische Analyse	15
2.6.	Stereologische Berechnungen	18
2.7.	Statistische Auswertung	20

3.	RESULTATE	21
3.1.	Glandula parathyreoidea	21
3.1.1.	Aufbau des Organs	21
3.1.2.	Zytoplasma	21
3.1.3.	Nukleus	26
3.1.4.	Mitochondrien	26
3.1.5.	Rauhes endoplasmatisches Retikulum	26
3.1.6.	Golgi Apparat, Sekretgranula und Lysosomen	26
3.2.	Serum-Kalzium	27
4.	DISKUSSION	28
4.1.	Auftreten der ersten erfassbaren ultrastruk- turellen Aenderungen	28
4.2.	Zur Wirkungsweise von Vitamin D ₃	28
4.3.	Zellvolumen, Aenderungen bezüglich des Organauf- baus	29
4.4.	Zellmembranen	30
4.4.1.	Plasmamembran	30
4.4.2.	Golgi Apparat	31
4.4.3.	Rauhes endoplasmatisches Retikulum	32
4.5.	Serum-Kalzium	32
5.	ZUSAMMENFASSUNG	33
6.	LITERATUR	34
7.	DANKESADRESSEN	46
8.	LEBENS LAUF	47

1. EINFUEHRUNG

1.1. Glandula parathyreoidea

In der Gl. parathyreoidea wird das Parathormon (PTH) synthetisiert, welches eine Hauptrolle in der Aufrechterhaltung des Kalziumspiegels der Körperflüssigkeiten spielt.

Das PTH steuert die Resorption von Kalzium aus dem Knochen, erhöht die renale, tubuläre Reabsorption von Kalzium und Phosphat und, auf dem Umweg über die Aktivierung von Vitamin D₃ in Leber und Niere, die Kalziumresorption im Darm (12).

1.1.1. Regulation der Parathormon-Sekretion

Die Sekretion von PTH wird hauptsächlich durch die extrazelluläre Kalzium- und Magnesiumionenkonzentration reguliert (38, 67). Daneben sind viele andere Wirkstoffe von untergeordneter Bedeutung bekannt, die sich hemmend oder stimulierend auf die PTH-Sekretion auswirken (Tabelle 1).

Ferner ändert sich beim Menschen die PTH-Sekretion in einem zirkadianen Rhythmus (46). Während des Tages ist die PTH-Konzentration im Blut ziemlich konstant. Am Abend steigt sie an, erreicht zwischen 2 Uhr und 4 Uhr ihr Maximum und fällt gegen Morgen wieder auf den Ursprungswert zurück.

Während des Schlafes fallen Änderungen im PTH-Spiegel zeitlich genau mit bestimmten Schlafstadien zusammen (47).

Tabelle 1:

Wirkstoff:	Wirkung auf die PTH-Sekretion:	Literatur:
Epinephrine	Stimulation	5, 9, 28, 40, 48
Somatotropes Hormon	"	49
Sekretin	"	74
Glucocorticoide	"	31
Calcitonin	"	21, 29, 59
Vitamin A	"	16, 17, 18
Prostaglandin E ₂	"	32
Prostaglandin E ₁	Hemmung	52
" F _{2d}	"	33
Somatostatin	"	39
Somatotropes Hormon	"	3
Vitamin D	"	2, 11, 14, 15, 25, 27, 44

1.1.2. Biosynthese von Parathormon

Nach Transkription der DNS im Kern und Translation der mRNA durch Polyribosomen im Zytoplasma entsteht das PräProPTH, welches unter Abspaltung der Präsequenz als ProPTH ins raue endoplasmatische Retikulum (RER) eingeschleust wird. Dann erfolgt ein energieabhängiger Transport des ProPTH zum Golgi Apparat, wo die Prosequenz abgespalten und das PTH (1-84) in Granula verpackt wird (35, 36, 37). MacGregor et al. (54) nehmen an, dass PTH möglicherweise auch ohne in Granula verpackt zu werden, aus der Zelle geschleust werden kann.

1.1.3. Korrelation zwischen dem Aktivitätszustand und der morphologischen Erscheinungsform der Parathyreoidea-
zellen

Aktivitäts- bzw. Sekretionszustand und morphologische Erscheinungsform sind eng gekoppelt. Man unterscheidet zwei Haupttypen von Parenchymzellen: Helle und dunkle Hauptzellen. Daneben kommen oxyphile und intermediäre Zellformen vor (12, 63). Die hellen Hauptzellen weisen eine geringe Zytoplasmadichte auf, enthalten wenig entwickeltes RER, einen unauffälligen Golgi Apparat und wenige Mitochondrien. Ihre Plasmamembran ist nur leicht gefaltet und sie werden in ihrem Sekretionszyklus als inaktiv (ruhend) angesprochen. Zahlenmäßig überwiegen die hellen Hauptzellen in der PT des Menschen und der meisten Tierarten (12). Die dunklen Hauptzellen zeichnen sich durch eine erhöhte Zytoplasmadichte, reichlich Organellen und stark gefaltete Plasmamembran aus. Dieser Zelltyp stellt die sekretionsaktive Form dar.

Bei der Ratte sind die Begriffe helle und dunkle Hauptzellen nicht anwendbar, da alle PT-Zellen eine ähnliche Zytoplasmadichte aufweisen (51). Diese Tatsache stellt eine gute Ausgangslage dar, wenn Stimulation bzw. Hemmung der Parenchymzellen morphologisch objektiviert werden sollen.

1.2. Vitamin D₃

Vitamin D₃ hat eine ähnlich wichtige Bedeutung in der Regulation des Kalziumhaushaltes wie PTH.

1.2.1. Wirkungen von Vitamin D₃ (23, 69)

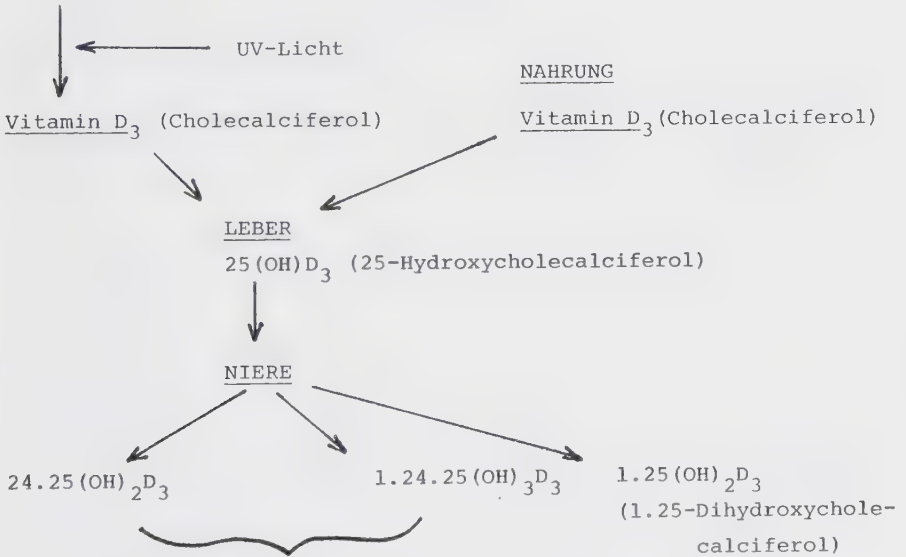
- a) Knochen: Förderung der Mobilisation von Kalzium und Phosphat.
In Abwesenheit von PTH bleibt diese Wirkung aus.
- b) Darm: Vermehrte Resorption von Kalzium und Phosphat.
- c) Niere: Förderung der Retention von Kalzium und Phosphat.
- d) Glandula parathyreoidea: Hemmung der PTH-Sekretion.

1.2.2. Herkunft und Metabolismus von Vitamin D₃

Die Quellen und wichtigsten Schritte im Metabolismus von Vitamin D₃ sind im folgenden Schema dargestellt (23):

HAUT (Epidermis)

7-Dehydrocholesterol (Provitamin D₃)

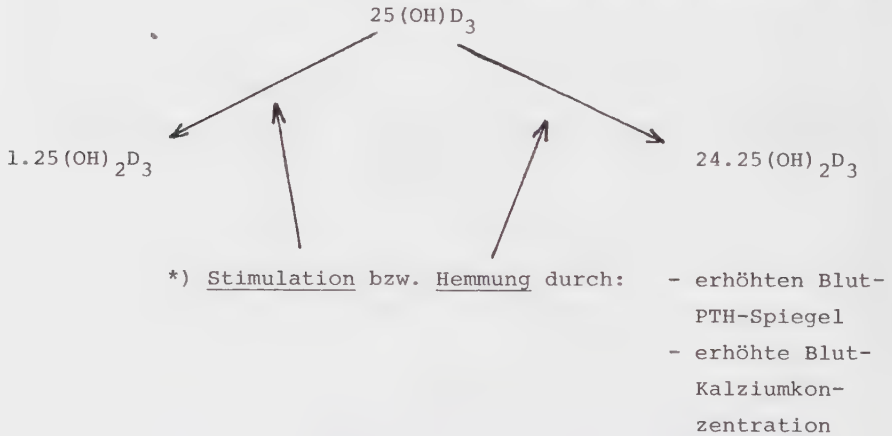


Die biologische Aktivität dieser Metaboliten liegt weit unter derjenigen von 1.25(OH)₂D₃. Ihre physiologische Bedeutung ist unklar. Dasselbe gilt für den Metaboliten 25.26(OH)₂D₃, dessen Herkunft unbekannt ist.

= aktivster Metabolit von Vitamin D.

Vitamin D_3 kann auch in der Leber inaktiviert und hauptsächlich in die Galle ausgeschieden werden.

Die Regulation des Vitamin D_3 -Metabolismus ist im folgenden Schema dargestellt (23):



Anfallendes $1.25(OH)_2D_3$ fördert die Bildung von $24.25(OH)_2D_3$.

*) Larsson et al. (50) haben keine Hinweise gefunden, welche für einen Einfluss von PTH auf die Umwandlung von $25(OH)D_3$ in $1.25(OH)_2D_3$ sprechen würde.

1.3. Einfluss von Vitamin D_3 auf die Glandula parathyreoidea

1.3.1. Einfluss von Vitamin D_3 auf die Parathormon-Sekretion

Vitamin D_3 hemmt die PTH-Sekretion bei gesunden Tieren (11, 15), bei rachitischen Kindern (27) und bei Menschen mit primärem Hyperparathyreoidismus (44). Auch in vitro wurde in Organkulturen ein hemmender Effekt nachgewiesen (2, 25). Untersuchungen über den akuten Effekt von Vitamin D_3 haben z.T. entgegengesetzte Resultate ergeben. Llach et al. (53) haben bei Menschen nach $1.25(OH)_2D_3$ -Gaben eine Abnahme, Zunahme oder keine Änderung der PTH-Konzentration im Blut festgestellt. Tanaka et al. (66)

fanden bei Ratten und Oldham et al. (60) bei gesunden Welpen nach Vitamin D-Applikation keinen signifikanten Abfall des PTH-Spiegels im Blut. Oldham et al. (60) haben bei Welpen mit Vitamin D-Mangel nach Applikation von $1.25(\text{OH})_2\text{D}_3$ sogar vorübergehend einen Anstieg der PTH-Konzentration im Blut festgestellt.

Ob die PTH-Sekretion durch einen direkten Einfluss von Vitamin D_3 oder über den Umweg der erhöhten Kalziumresorption im Darm gehemmt wird, ist nicht genau geklärt. Folgende Arbeiten deuten auf einen direkten Effekt hin:

Henry und Norman (42) haben 2h nach intrakardialer Applikation von $1.25(\text{OH})_2\text{D}_3$ und $25(\text{OH})\text{D}_3$ an Kücken mit Vitamin D-Mangel eine Akkumulation der Metaboliten in der Glandula parathyreoidea festgestellt.

In den Gll. parathyreoideae von Mensch, Schwein, Rind und Kücken konnten spezifische Rezeptoren für Vitamin D-Metaboliten nachgewiesen werden (10, 19, 45, 62).

Dietel et al. (25) haben gezeigt, dass in Organkulturen $1.25(\text{OH})_2\text{D}_3$ nicht nur die Sekretion, sondern auch die Biosynthese von PTH hemmt. Chertow et al. (15) bewiesen in vivo bei Ratten und in vitro in PT-Organokulturen, dass die hemmende Wirkung von $1.25(\text{OH})_2\text{D}_3$ auf die PTH-Sekretion durch Senkung der Kalziumionenkonzentration nicht kompensiert werden kann.

1.3.2. Einfluss von Vitamin D_3 auf die Morphologie der Glandula parathyreoidea

Holmlund et al. (44) haben den Einfluss von Vitamin D_3 auf die Gl. parathyreoidea von Menschen mit primärem Hyperparathyreoidismus untersucht. Präoperativ wurden die Patienten mit $1.25(\text{OH})_2\text{D}_3$ behandelt. Obwohl sich dadurch der Serum-PTH-Spiegel senkte, konnten keine strukturellen Veränderungen in der exstirpierten Gl. parathyreoidea festgestellt werden, welche mit Sicherheit auf die Applikation von $1.25(\text{OH})_2\text{D}_3$ zurückgeführt hätten werden können. Hingegen fanden Dietel et al. (25) schon 4h nach Inkubation von PT-Zellkulturen mit $1.25(\text{OH})_2\text{D}_3$ die ersten ultrastrukturellen Änderungen.

1.4. Zielsetzung

Die morphologischen Unterschiede zwischen normalen und stimulierten bzw. gehemmten PT-Zellen wurden schon mehrmals beschrieben; es liegen aber keine quantitativen Angaben vor. Ziel dieser Arbeit war, morphologische Aenderungen in der Gl. parathyreoidea innerhalb von 72h nach intramuskulärer Applikation von Vitamin D₃ quantitativ zu erfassen.

2. MATERIAL UND METHODE

2.1. Tiere und Versuchsanordnung

30 männliche Wistarratten mit einem Körpergewicht von 300-320 g wurden während 14 Tagen vor Versuchsbeginn unter gleichen Bedingungen gehalten. Während dieser Zeit sowie während der anschließenden Versuchszeit erhielten sie Würfelfutter (NAFAG Standardzucht-Alleinfutter), welches nach Analyse der Eidg. Forschungsanstalt für Viehwirtschaftliche Produktion, Grangeneuve, folgende Gehalte an Kalzium-, Phosphor- und Magnesiumionen enthielt:

- Kalzium: 1.2%
- Phosphor: 0.83%
- Magnesium: 0.18%

Verhältnis von Kalzium zu Phosphor: 1.45 : 1

Die Einteilung der Tiere erfolgte in 5 Gruppen (Tabelle 2). Gruppe A war die Kontrollgruppe. Die Versuchstiere der Gruppen B, C, D und E erhielten eine einmalige, intramuskuläre Injektion von 20'000 I.E. einer wässrigen Lösung eines kristallinen Vitamin D₃ Präparates (Vi-De 3 Hydrosol, Wander AG, Bern), was einer 6fachen therapeutischen Dosis für Ratten entspricht (30). Die Tiere der Gruppen B, C und D bekamen 3 Tage vor der Vitaminapplikation bis zu ihrer Tötung eine 0,15 M Kalziumgluconatlösung statt Wasser ad libitum vorgesetzt. Die Ratten wurden 6h, 24h oder 72h nach der Vitamininjektion getötet.

Tabelle 2:

Gruppe A:	Wasser, Kontrollgruppe
Gruppe B:	Ca-Gluconat, Vitamin D für 6h
Gruppe C:	Ca-Gluconat, Vitamin D für 24h
Gruppe D:	Ca-Gluconat, Vitamin D für 72h
Gruppe E:	Wasser, Vitamin D für 72h

2.2. Entnahme von Blutproben und Bestimmung des Serum-Kalziums

Um die Aenderung der Kalziumkonzentration im Blut der Tiere, bewirkt durch die Applikation von Vitamin D₃, feststellen zu können, wurden jeder Ratte zwei Blutproben entnommen:

Die erste Blutprobe (ca. 2 ml) wurde unmittelbar vor der Injektion des Vitamins den mit Aether narkotisierten Ratten aus dem retrobulbären Venensinus entnommen.

Die zweite Blutprobe von derselben Menge wurde am narkotisierten Tier nach Eröffnen der Brusthöhle durch Punktion des linken Herzventrikels gewonnen. Die Proben wurden anschliessend zentrifugiert und der totale Kalziumgehalt im Serum durch Atomabsorption bestimmt.

2.3. Tötung der Tiere und Präparation der Glandulae parathyreoideae

Jeder Versuch wurde zeitlich so angesetzt, dass dessen Ende auf einen Zeitpunkt zwischen 13 Uhr und 15 Uhr fiel, damit sich alle Tiere in der gleichen zirkadianen Phase befanden. Die Tiere wurden mit Pentobarbital (Nembutal, Abbott) intraperitoneal narkotisiert, und zwar mit einer Dosis von 30-40 mg pro kg Körpergewicht. Um den toxischen Effekt dieses Barbiturates auf das Nervensystem abzuschwächen, wurde es im Verhältnis 1:1 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt. Nach Eröffnen von Bauch- und Brusthöhle wurde via linken Herzventrikel eine Kanüle in die Aorta eingesetzt, durch einen Schnitt der rechten Ventrikel eröffnet und während 15-20 Min. mit ca. 200 ml 2.5% Glutaraldehydlösung, pH 7.4, 300 mOsm mit einem Druck von 120 cm Wassersäule bei Zimmertemperatur perfundiert. Mit Hilfe einer Lupe konnten die so optimal fixierten Gll. parathyreoideae präpariert werden. Bei den Ratten kommen in der Regel nur deren zwei vor, welche meistens an der lateralen Oberfläche der beiden Gll. thyreoideae eingelagert sind (41). Akzessorische Gll. parathyreoideae können im Thymus eingelagert sein oder dorsolateral des Oesophagus liegen (41).

2.4. Präparation der Glandulae parathyreoideae für die elektronenmikroskopische Untersuchung

Unmittelbar nach ihrer Entnahme wurden die Gll. parathyreoideae wie folgt behandelt:

- Fixation: 2.5% Glutaraldehyd in 0.1 M Natriumcacodylat Puffer, pH 7.4, 300 mOsm (Endosmolarität 540 mOsm) während 1-2h bei 4°C.
- 0.1 M s-Collidine, pH 7.4, 300 mOsm, über Nacht bei 4°C.
- Nachfixation: 1% Osmiumsäure in 0.1 M s-Collidine, pH 7.4, 300 mOsm während 1h bei Zimmertemperatur.
- Dehydratation in aufsteigender Alkoholreihe, je 10 Min. in 70%, 80%, 96% und 3 mal 10 Min. in 100% Alkohol bei Zimmertemperatur.
- Propylenoxyd 2 mal 30 Min. bei Zimmertemperatur.
- Epon 812-Propylenoxyd-Gemisch im Verhältnis 1:1 über Nacht.
- Einbettung in Epon 812 und Polymerisation während 3 Tagen bei 60°C.

Auf einem Ultratom III (LKB) wurden Semidünnschnitte der Gll. parathyreoideae hergestellt und mit Methylenblau gefärbt. Dann wurden von jeder Gl. parathyreoidea Ultradünnschnitte angefertigt, auf unbeschichtete Kupfernetzchen (250 mesh) aufgenommen und mit Magnesium-Uranylacetat während 4 Min. und anschliessend mit Bleicitrat während 3 Min. kontrastiert. Zur Stabilisierung der Dünnschnitte wurde eine 1.5-2 nm dicke Kohleschicht mit einer Elektronenstrahl-Verdampfungseinrichtung in einer Hochvakuum-Bedampfungsanlage (BAE 121, Balzers) bei einem Vakuum von 10^{-4} bis 10^{-5} mbar aufgedampft.

2.5. Morphometrische Analyse

Von jeder Gl. parathyreoidea wurde ein Ultradünnschnitt verwendet. Mit einem Elektronenmikroskop (EM Philips 201) wurden systematisch (71) je 10 Aufnahmen auf einen 35 mm Film aufge-

nommen, und zwar in drei Vergrößerungsstufen, I (ca. 930 x), II (ca. 2100 x), III (ca. 5700 x). Der effektive Vergrößerungsfaktor wurde mit Hilfe eines Grating Replicas (Linienabstand = 0.463 μm) für jeden Film und jede Stufe bestimmt.

Die Negative wurden in einer Projektionseinheit mit einer 10fachen Vergrößerung auf auswechselbare Mattscheiben mit verschiedenen Testsystemen projiziert. Mit dem Punktzählverfahren (71) liess sich Gewebs- und Zellanteile schätzen. Die Daten wurden in einem Tischrechner HP 9815 s festgehalten, mit dem anschliessend alle stereologischen Berechnungen und einfache statistische Auswertungen durchgeführt wurden.

Aus den verschiedenen Vergrößerungsstufen wurden folgende Gewebs- und Zellanteile geschätzt:

Vergrößerungsstufe I: (Endvergrößerung ca. 9300 x)

Testsystem A₁₀₀ (Anzahl Testpunkte = 100, Linienabstand = 27 mm)

Volumendichte von - Nukleus	V_{Vn}
- Zytoplasmafraktion	V_{Vcy}
- Interstitium (inkl. Gefässe und Nerven)	V_{Vint}
- Parathyreoideazelle	$V_{Vpc} (V_{Vn} + V_{Vcy})$

Absolute Anzahl der Kernanschnitte auf totaler

Testfläche A_n

Vergrößerungsstufe II: (Endvergrößerung ca. 21'000 x)

Testsystem D₆₄ : Doppelquadrattestsystem mit 64 Haupttestpunkten
-----64-----
(Linienabstand = 33.7 mm) und Gitterunter-
teilung von $q^2 = 16$ (72).

Volumendichte subzellulärer Komponenten i: V_{Vi}

von - Mitochondrien	V_{Vmi}
- Sekretgranula	V_{Vsg}
- Lysosomen	V_{Vl}

Testsystem M₁₆₈: 168 Testpunkte, Gesamttestlinie = 134.4 cm
-----168-----

Oberflächendichte von - Plasmamembran S_{Vpm}

- Nukleus	S_{Vn}
-----------	----------

Vergrößerungsstufe III: (Endvergrößerung ca. 57'000 x)

Testsystem M₁₆₈:
-----168-----

Volumendichte subzellulärer Komponenten j: V_{Vj}

von - Golgi Apparat	V_{Vgo}
- RER	V_{VRER}

Oberflächendichte der subzellulären Komponenten j: S_{Vj}

von - Golgi Apparat	S_{Vgo}
- RER	S_{VRER}

2.6. Stereologische Berechnungen

Aus Stufe I:

- A. Die numerische Dichte der Kerne (N_{Vn}) wurde nach zwei verschiedenen Methoden berechnet, deren Resultate gut übereinstimmen:

1. Nach De Hoff und Rhines (22):

Die numerische Dichte der Kerne (N_{Vn}) ist nach De Hoff und Rhines:

$$N_{Vn} = N_{An} \cdot \bar{D}^{-1}$$

$\bar{D}$ = mittlerer Kerndurchmesser

Mit einem Testsystem bestehend aus 10 konzentrischen Kreisen mit einer Durchmesserdiffereenz von 1 cm wurde der mittlere Durchmesser approximativ bestimmt. Diese Durchmesser wurden in 10 Klassen eingeteilt und damit ein Histogramm gebildet. Nach Giger und Riedwyl (34) konnte der wahre Durchmesser $\bar{D}$ berechnet werden. Bei der Anwendung dieser Methode muss berücksichtigt werden, dass die wahre Form der Kerne keine Kugel ist. Aufgrund der Kernprofile muss angenommen werden, dass es sich um ellipsoidähnliche Gebilde handelt. Um diesem Umstand Rechnung zu tragen, wurde die numerische Dichte der Kerne auch nach der Formel von:

2. Weibel und Gomez (73) berechnet:

$$N_{Vn} = (K \cdot \beta^{-1}) (N_{An}^{2/3} \cdot V_{Vn}^{-1/2})$$

K ist abhängig von der Grössenverteilung. Da anhand der Histogramme angenommen werden kann, dass alle Kerne gleich gross sind, ist $K = 1$.

β ist abhängig von der Kernform. Nachdem die grossen (a) und kleinen Achsen (b) der ellipsoiden Kernanschnitte gemessen wurden, konnte der Quotient aus den Achsensummen:

$$\frac{\sum a}{\sum b}$$

gebildet werden und anhand einer Tabelle (72) der Formfaktor β eruiert werden.

Für alle stereologischen Berechnungen wurden die nach dieser Methode bestimmten Resultate benutzt.

B. Das durchschnittliche Kernvolumen $\bar{V}_n$ und das durchschnittliche Volumen einer PT-Zelle $\bar{V}_{pc}$ wurde aus dem Quotient von Volumendichte der PT-Zellen V_{Vpc} und numerischer Dichte der Kerne N_{Vn} errechnet:

$$\bar{V}_n = V_{Vn} \cdot N_{Vn}^{-1}, \quad \text{da } N_{Vn} = N_{Vpc},$$

$$\text{ist: } \bar{V}_{pc} = V_{Vpc} \cdot N_{Vn}^{-1}$$

Aus Stufe II:

A. Die Volumina der subzellulären Komponenten i (V_i^{pc}) pro durchschnittlichem PT-Zellvolumen $\bar{V}_{pc}$ konnten nach der Formel:

$$V_i^{pc} = V_{Vi}^{cy} \cdot \frac{V_{Vcy}}{V_{Vpc}} \cdot \bar{V}_{pc} \quad \text{berechnet werden.}$$

B. Die Zelloberfläche S_{pm}^{pc} pro Durchschnittszelle wurde aus der Oberflächendichte der Plasmamembran S_{Vpm} nach der Formel:

$$S_{pm}^{pc} = S_{Vpm} \cdot \frac{V_{Vcy}}{V_{Vpc}} \cdot \bar{V}_{pc} \quad \text{berechnet.}$$

C. Die Kernoberfläche S_n^{PC} pro Durchschnittszelle wurde aus der Oberflächendichte der Kerne S_{Vn} wie folgt berechnet:

$$S_n^{PC} = S_{Vn} \cdot \bar{V}_{Vn}$$

Aus Stufe III:

Die Volumina V_j^{PC} und die Oberflächen S_j^{PC} der subzellulären Komponenten j wurden nach folgenden Formeln berechnet:

$$V_j^{PC} = V_{Vj} \cdot \frac{V_{Vcy}}{V_{Vpc}} \cdot \bar{V}_{pc} \quad \text{und} \quad S_j^{PC} = S_{Vj} \cdot \frac{V_{Vcy}}{V_{Vpc}} \cdot \bar{V}_{pc}$$

Die Oberflächen aller zellulären und subzellulären Komponenten wurden zusätzlich pro 1 mm^3 Gewebe ausgerechnet. Ferner wurde die Anzahl PT-Zellen pro 1 mm^3 Gewebe berechnet.

2.7. Statistische Auswertung

Die so erhaltenen Werte wurden mit einer Varianzanalyse verglichen und die Signifikanz der Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen mit einem multiplen T-Testverfahren errechnet.

3. RESULTATE

3.1. Glandula parathyreoidea

3.1.1. Aufbau des Organs

Der Aufbau der Gl. parathyreoidea war bei allen Gruppen ähnlich. Die polygonalen Parenchymzellen waren entweder in kleinen Gruppen um Kapillaren, oder in Strängen angeordnet, die durch wenig lockeres Bindegewebe voneinander getrennt waren. In den mit Methylenblau gefärbten Semidünnschnitten waren mit wenigen Ausnahmen alle Parenchymzellen gleich intensiv gefärbt. Bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung zeigten sich leichte Unterschiede in der Elektronendichte des Zytoplasmas. Die Zahl und Verteilung der Organellen waren aber in allen Zellen ähnlich, weshalb sie nicht als helle und dunkle Hauptzellen angesprochen werden konnten.

3.1.2. Zytoplasma

Das durchschnittliche Volumen einer PT-Zelle war bei allen Gruppen statistisch nicht signifikant unterschiedlich. Hingegen war das PT-Zellvolumen pro 1 mm^3 Gewebe bei der Gruppe E statistisch signifikant kleiner als bei der Kontrollgruppe und Gruppe D (Tabellen 3 und 4).

Die Oberfläche einer durchschnittlichen PT-Zelle der Gruppen C und E waren statistisch signifikant kleiner als die der Kontrollgruppe. Bezogen auf 1 mm^3 Gewebe war die gesamte Zelloberfläche nur bei Gruppe E statistisch signifikant kleiner als bei der Kontrollgruppe. Die Summe der Oberflächen einer durchschnittlichen PT-Zelle und des Golgi Apparates war bei allen Gruppen ähnlich wie bei der Kontrollgruppe. Die entsprechende Summe der Gruppe E war statistisch signifikant kleiner als bei Gruppe D.

Das Verhältnis aus der Oberfläche einer durchschnittlichen PT-Zelle zur Oberfläche einer Kugel mit dem Volumen einer durchschnittlichen PT-Zelle war bei Gruppe C statistisch signifikant kleiner als bei der Kontrollgruppe.

Tabelle 3: Volumina (μm^3) und Oberflächen (μm^2) von PT-Zellen sowie Volumina und Oberflächen von subzellulären Komponenten ausgedrückt pro durchschnittlicher PT-Zelle

		Vitamin D ₃ + Ca-Gluconat				Vit. D ₃
		A: Kontrollgruppe	B: 6h	C: 24h	D: 72h	E: 72h
PT-Zellen:	Volumen	435,899 (11,344)	414,396 (34,051)	383,645 (62,114)	395,233 (36,281)	389,367 (75,547)
PT-Zellen:	Oberfläche	743,825 (13,962)	714,242 (102,640)	573,287 [*] (116,518)	672,964 (101,173)	564,955 ^{**} (148,943)
Zellkern:	Volumen	138,107 (4,919)	129,458 (12,313)	121,597 (17,676)	136,842 (15,758)	125,137 (20,512)
Zellkern:	Oberfläche	177,306 (23,614)	160,962 (11,378)	153,870 (24,257)	171,480 (27,826)	152,211 (23,315)
RER:	Volumen	6,413 (1,078)	6,780 (1,289)	5,880 (1,535)	4,230 [*] (0,842)	5,554 (2,338)
RER:	Oberfläche	433,397 (39,920)	375,094 (75,483)	352,972 (56,236)	288,272 [*] (72,071)	343,473 [*] (100,958)
Golgi Apparat:	Volumen	18,618 (3,060)	21,401 (4,960)	23,699 (6,933)	23,882 (5,252)	19,180 (6,141)
Golgi Apparat:	Oberfläche	890,359 (107,310)	991,874 (206,562)	1055,160 (241,222)	1085,075 (258,178)	840,679 (218,572)
Sekretgranula:	Volumen	6,380 (0,758)	6,003 (1,333)	6,055 (2,230)	6,439 (1,797)	5,644 (1,955)
Mitochondrien:	Volumen	20,102 (4,202)	18,846 (3,219)	17,457 (4,255)	19,836 (3,409)	17,174 (2,517)
Lysosomen:	Volumen	0,344 (0,158)	0,299 (0,191)	0,451 (0,349)	0,129 (0,140)	0,161 (0,170)
Quotient aus Zelloberfläche zu Kugeloberfläche		2,677 (0,083)	2,653 (0,281)	2,249 [*] (0,413)	2,581 (0,301)	2,189 (0,532)
Summe aus Oberflächen von Golgi Apparat und Zelle		1642,517 (106,209)	1706,116 (270,572)	1628,447 (315,561)	1758,039 (334,756)	1405,634 [†] (257,645)

Standardabweichungen sind in Klammern gesetzt.

Signifikanzniveau im Vergleich zur Kontrolle: ^{*}) $p < 0,05$, ^{**}) $p < 0,01$

Signifikanz zwischen Gruppe D und Gruppe E: [†] $p < 0,05$

Tabelle 4: Anzahl, Volumina (mm^3) und Oberflächen (mm^2) von PT-Zellen und von subzellulären Komponenten pro 1 mm^3 Gewebe

		Vitamin D ₃ + Ca-Gluconat			Vit. D ₃	
		A: Kontroll- gruppe	B: 6h	C: 24h	D: 72h	E: 72h
PT-Zellen:	Anzahl	1,741.10 ⁶ (0,121)	1,771.10 ⁶ (0,215)	2,011.10 ⁶ (0,371)	1,936.10 ⁶ (0,272)	1,787.10 ⁶ (0,271)
PT-Zellen:	Volumen	0,759 (0,049)	0,746 (0,056)	0,753 (0,041)	0,769 (0,040)	0,682 ^{†*)} (0,085)
PT-Zellen:	Oberfläche	1,286 (0,076)	1,256 (0,178)	1,203 (0,244)	1,221 (0,134)	1,055 ^{*)} (0,249)
Kern:	Volumen	0,241 (0,022)	0,235 (0,012)	0,239 (0,017)	0,252 (0,014)	0,220 ^{††} (0,024)
Kern:	Oberfläche	0,309 (0,044)	0,293 (0,028)	0,303 (0,026)	0,313 (0,019)	0,269 ^{†*)} (0,035)
RER:	Volumen	0,011 (0,002)	0,012 (0,003)	0,012 (0,003)	0,008 ^{*)} (0,002)	0,010 (0,002)
RER:	Oberfläche	0,755 (0,085)	0,680 (0,160)	0,712 (0,132)	0,539 ^{*)} (0,149)	0,596 ^{*)} (0,091)
Golgi Apparat:	Volumen	0,034 (0,006)	0,038 (0,008)	0,046 ^{*)} (0,009)	0,044 ^{*)} (0,008)	0,034 [†] (0,008)
Golgi Apparat:	Oberfläche	1,570 (0,230)	1,792 (0,399)	2,064 ^{*)} (0,344)	1,980 ^{*)} (0,279)	1,472 ^{††} (0,265)
Sekretgranula:	Volumen	0,011 (0,002)	0,011 (0,003)	0,012 (0,002)	0,012 (0,003)	0,010 (0,002)
Mitochondrien:	Volumen	0,035 (0,006)	0,034 (0,004)	0,034 (0,005)	0,036 (0,005)	0,030 [†] (0,003)

Standardabweichungen sind in Klammern gesetzt

Signifikanzniveau im Vergleich zur Kontrolle: *) $p < 0,05$

Signifikanz zwischen Gruppe D und Gruppe E: † $p < 0,05$, †† $p < 0,01$

Abbildungen 1 und 2:

Elektronenmikroskopische Aufnahmen aus der Glandula parathyreoidea von Ratten 24h (Abb. 1) und 72h (Abb. 2) nach Applikation von Vitamin D₃.

Vergrößerungen: Balken = 1 µm

•

N	=	Nukleus
Pm	=	Plasmamembran
Go	=	Golgi Apparat
Mi	=	Mitochondrien
RER	=	Raues endoplasmatisches Retikulum
Sg	=	Unreife Sekretgranula

Abb. 1

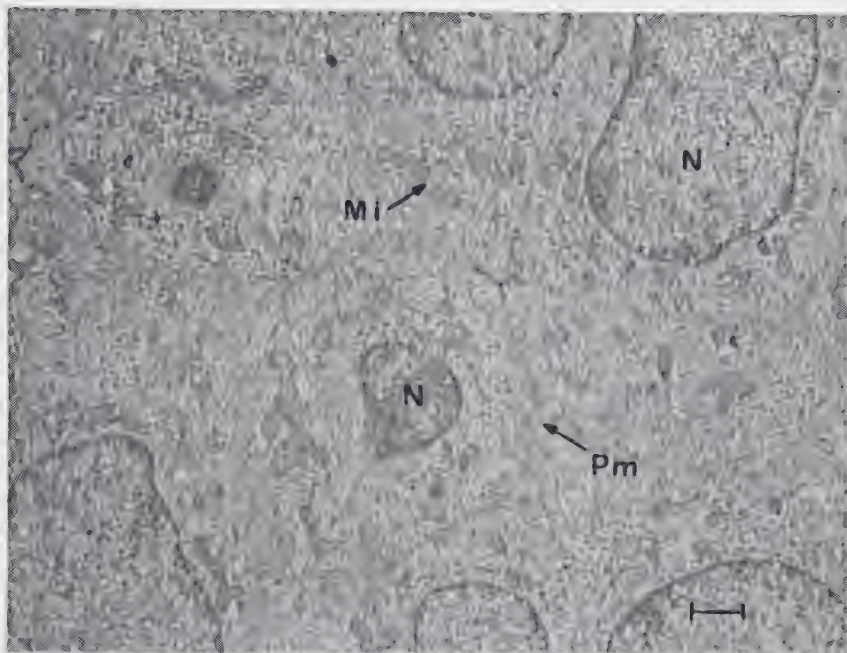
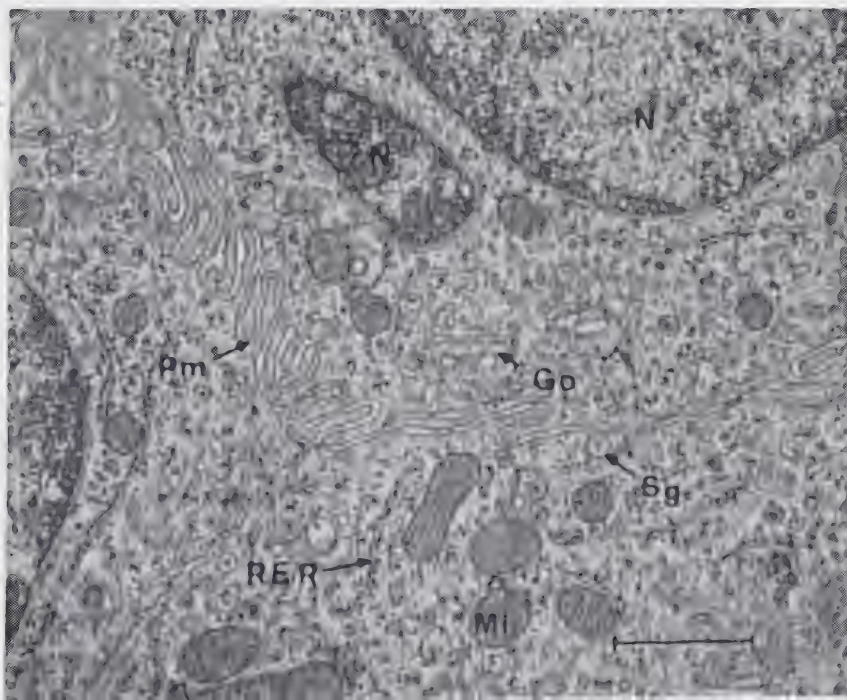


Abb. 2



3.1.3. Nukleus

Die Zellkerne hatten eine ellipsoidähnliche Form und viele kleine Einbuchtungen.

Bei der Berechnung der durchschnittlichen Kernvolumina nach Weibel und Gomez (73) einerseits und nach De Hoff und Rhines (22) andererseits wichen die Werte wohl geringgradig voneinander ab, die Unterschiede waren aber statistisch nicht signifikant. Das durchschnittliche Kernvolumen sowie die Kernoberfläche waren bei allen Gruppen ähnlich. Bezogen auf 1 mm^3 Gewebe war das Kernvolumen der Gruppe E statistisch signifikant kleiner als bei der Gruppe D und die Kernoberfläche der Gruppe E unterschied sich statistisch signifikant von den Gruppen A und D.

3.1.4. Mitochondrien

Die Mitochondrien waren gleichmässig über das Zytoplasma verteilt und ihre Anschnitte waren rund bis elliptisch. Bezogen auf eine durchschnittliche PT-Zelle waren die Mitochondrien statistisch nicht unterschiedlich (Tabelle 3). Pro 1 mm^3 Gewebe war das Mitochondrienvolumen der Gruppe E statistisch signifikant kleiner als bei Gruppe D (Tabelle 4).

3.1.5. Rauhes endoplasmatisches Retikulum (RER)

Das wenig ausgebildete RER war diffus im Zytoplasma verteilt. Seine Lamellen umschlossen lange, schmale Zysternen.

Das RER-Volumen pro durchschnittlicher PT-Zelle und pro 1 mm^3 Gewebe war bei Gruppe D statistisch signifikant kleiner als bei Gruppe A, während sich die RER-Oberfläche pro durchschnittlicher PT-Zelle und pro 1 mm^3 Gewebe sowohl bei Gruppe D wie bei Gruppe E statistisch signifikant von der Kontrollgruppe unterschieden (Tabellen 3 und 4).

3.1.6. Golgi Apparat, Sekretgranula und Lysosomen

Bezogen auf eine durchschnittliche PT-Zelle waren die Werte von Volumina und Oberflächen des Golgi Apparates bei allen Gruppen ähnlich. Volumen und Oberfläche des Golgi Apparates pro 1 mm^3

Gewebe waren bei den Gruppen C und D statistisch signifikant grösser als bei der Kontrolle. Volumen und Oberfläche des Golgi Apparates pro 1 mm^3 Gewebe der Gruppe E unterschieden sich statistisch signifikant von der Gruppe D, nicht aber von der Kontrollgruppe.

Bei allen Gruppen kamen Sekretgranula sehr selten vor, Lysosomen waren nur vereinzelt vorhanden.

3.2. Serum-Kalzium

Zu Versuchsende war die Serum-Kalzium-Konzentration bei der Gruppe D statistisch signifikant grösser als bei den Gruppen A und E (Tab. 5). Die Serum-Kalzium-Werte aller Gruppen zu Versuchsbeginn waren in derselben Grössenordnung wie bei der Kontrollgruppe A und sind in Tabelle 5 nicht dargestellt.

Tabelle 5:

Serum-Kalziumgehalt der verschiedenen Gruppen zu Versuchsende.

		Vitamin D ₃ + Ca-Gluconat			Vit. D ₃
A: Kontrollgruppe		B: 6h	C: 24h	D 72h	E: 72h
mg % Ca	10,1 (1,7)	11,1 (1,3)	9,2 (0,9)	13,2 ^{**}) (0,6)	11,5 [†] (1,4)

Standardabweichungen sind in Klammern gesetzt.

Signifikanzniveau im Vergleich zur Kontrolle: ^{**}) $p < 0.01$

Signifikanz zwischen Gruppe D und Gruppe E: [†] $p < 0.05$

4. DISKUSSION

4.1. Auftreten der ersten erfassbaren ultrastrukturellen Aenderungen

Die angeführten Resultate zeigen, dass nach intramuskulärer Applikation von Vitamin D_3 die PT-Zellen von Ratten ultrastrukturelle Aenderungen erfahren, die nach 24h statistisch signifikant wurden (Tabellen 3 und 4). Dietel et al. (25) inkubierten PT-Organkulturen mit $1.25(OH)_2 D_3$ und stellten bereits nach 4h die ersten ultrastrukturellen Aenderungen fest. Die zeitliche Diskrepanz zwischen Dietels Befunden und den hier vorgelegten Beobachtungen ist möglicherweise darauf zurückzuführen, dass Dietel mit dem in dieser Funktion aktivsten Metaboliten (14) inkubierte, während diesen Versuchsratten eine physiologisch unwirksame Vorstufe von Vitamin D_3 appliziert wurde, die vorerst in Leber und Niere zu $1.25(OH)_2 D_3$ metabolisiert werden musste.

4.2. Zur Wirkungsweise von Vitamin D_3

Es ist nicht klar, inwiefern die ultrastrukturellen Aenderungen der PT-Zellen das Resultat eines direkten und/oder indirekten Effektes von Vitamin D_3 (über den Umweg der erhöhten Kalziumresorption im Darm) war. Es lassen sich aber zwei Indizien für eine direkte Wirkung ableiten:

1. Bei den Tieren, die nach 24h geprüft wurden, war der Serum-Kalziumgehalt zu Versuchsende ähnlich wie bei den Kontrolltieren. Die Tatsache, dass die PT-Zellen dieser Tiere statistisch signifikante Aenderungen erfuhren, deutet auf eine direkte Wirkung von Vitamin D_3 hin.

2. Die Tiere der Gruppen D und E wurden nach 72h geprüft. Gruppe D erhielt zusätzlich Kalziumgluconat im Trinkwasser, was verglichen mit Gruppe E zu einem statistisch signifikant höheren Endwert des Serum-Kalziums führte. Trotzdem waren Zellvolumen und Zelloberfläche sowie Volumen und Oberfläche von Golgi Apparat und RER pro durchschnittlicher PT-Zelle ähnlich. Wenn Vitamin D_3 die Gl. parathyreoidea nur indirekt (durch Erhöhung der Serum-

Kalzium-Konzentration) hemmen würde, könnte man erwarten, dass sich die Morphologie der Gll. parathyreoideae entsprechend ihrer Endwerte des Serum-Kalziums auch unterscheiden würden.

Mit Versuchen in vivo bei Menschen mit primärem Hyperparathyreoidismus (44) und bei normalen Ratten (15) wurde gezeigt, dass die PTH-Konzentration im Blut nach Applikation von $1.25(\text{OH})_2\text{D}_3$ signifikant abnimmt. Dieselben Resultate ergaben sich bei Versuchen in Organkulturen (2, 14, 15, 25). Chertow et al. (14) haben nachgewiesen, dass $1.25(\text{OH})_2\text{D}_3$ verglichen mit den andern Metaboliten die beste sekretionshemmende Wirkung auf die PT ausübt. Chertow et al. (15) zeigten, dass diese Hemmwirkung nicht ausbleibt, wenn im Organkulturmedium oder im Blut von Ratten die freie Kalziumionen-Konzentration gesenkt wird, was auf eine direkt hemmende Wirkung von Vitamin D_3 hindeutet. Entgegengesetzte Resultate ergaben sich in Kurzzeitexperimenten in vivo insofern, als nach Applikation von $1.25(\text{OH})_2\text{D}_3$ kein Effekt, ein geringer Abfall oder sogar ein vorübergehender Anstieg in der PTH-Konzentration festgestellt wurde (11, 53, 60, 66). Pike et al. (62) und Weckslers et al. (70) wiesen spezifische zytoplasmatische Rezeptoren, Brumbaugh et al. (10), Cloix et al. (19) und Hughes und Haussler (45) sowohl zytoplasmatische als auch nukleäre Rezeptoren für $1.25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in den Gll. parathyreoideae verschiedener Tierarten nach, ein Hinweis dafür, dass die Gl. parathyreoidea ein Zielorgan für dieses Steroid darstellt.

4.3. Zellvolumen, Änderungen bezüglich des Organaufbaus

Die durchschnittlichen Volumina der PT-Zellen unterschieden sich in keinem Fall statistisch signifikant. Bei den Gruppen C, D und E schienen sich aber die Zellvolumina verglichen mit der Kontrolle auf ein geringeres, untereinander ähnliches Niveau einzustellen (Tabelle 3). Setzt man dies in Beziehung zu den Daten, welche sich bezüglich 1 mm^3 Gewebe ergeben haben, so können folgende Schlüsse über das Verhalten der Gl. parathyreoidea als Ganzes gezogen werden:

Der prozentuale Volumenanteil des Parenchyms pro 1 mm^3 PT-Gewebe war bei der Gruppe D gleich wie bei der Kontrollgruppe, die absolute Zellzahl pro 1 mm^3 Gewebe grösser und das durchschnittliche Zellvolumen kleiner. Daraus kann gefolgert werden, dass sich die PT verkleinert hat.

Bei der Gruppe E war die Zellzahl pro 1 mm^3 Gewebe gleich, das durchschnittliche Zellvolumen kleiner und der prozentuale Parenchymanteil statistisch signifikant kleiner als bei der Kontrollgruppe. Daraus geht hervor, dass die Gl. parathyreoidea gleich gross geblieben und das Interstitium sich auf Kosten der Parenchymzellen verbreitert hat.

Zwischen den beiden Gruppen, welche 72h nach Vitamin D_3 -Applikation geprüft wurden, ergaben sich bezogen auf 1 mm^3 Gewebe statistisch signifikante Unterschiede (Tabelle 4) in Mitochondrienvolumen, in Volumina und Oberflächen von Golgi Apparat und Zellkern, wogegen sich diese Werte bezogen auf eine durchschnittliche PT-Zelle nicht unterschieden. Der Grund besteht darin, dass bei der Gruppe D die Zelldichte grösser und der prozentuale Parenchymanteil am Gewebe statistisch signifikant grösser war als bei Gruppe E.

Die Ursache für diese Aenderung ist unklar.

4.4. Zellmembranen

4.4.1. Plasmamembran

Die auffälligste Aenderung in diesen Versuchen war die Verminderung der Zelloberfläche bezogen auf eine durchschnittliche PT-Zelle, die 24h nach Applikation von Vitamin D_3 statistisch signifikant wurde. Morphologische Untersuchungen in Organkulturen (8, 64, 65) und bei verschiedenen Tierarten (1, 6, 7, 12, 13, 20) haben ergeben, dass die Zellmembranen von gehemmten PT-Zellen weniger stark gefaltet sind als solche von aktivierten Zellen, hingegen liegen keine quantitativen Angaben vor.

Um ein adäquates, volumenunabhängiges Mass für die Faltung der Plasmamembran zu erhalten, wurde angenommen, die PT-Zellen seien Kugeln mit den Volumina der durchschnittlichen PT-Zellen. Der Quotient der gemessenen Zelloberfläche pro durchschnittlicher PT-Zelle zur Kugeloberfläche (Tabelle 3) war bei den Tieren der Gruppe C statistisch signifikant kleiner als bei der Kontrollgruppe, was auf eine Reduktion der Faltung hinweist.

4.4.2. Golgi Apparat

Der Golgi Apparat ist der Ort der PTH-Verpackung und liefert somit die Membranen für die Sekretgranula (58). Langzeitversuche in vivo (1, 6, 7) ergaben, dass unter hypercalcämischen Bedingungen der Golgi Apparat reduziert wird. Ähnliche Befunde erhielten in in vitro Versuchen Boquist (8) und Roth und Raisz (64) schon nach 48h. Die in dieser Arbeit angeführten Resultate stimmen damit nicht überein. Es wurden weder in der Oberfläche noch im Volumen des Golgi Apparates bezogen auf eine durchschnittliche PT-Zelle Veränderungen festgestellt.

Aufgrund von Markierungsversuchen in Pankreas-, Parotis- und Tränendrüsenzellen (43, 55), in Hypophysenvorderlappen- und Hypophysenhinterlappenzellen (26, 56, 57, 61) und in Thyreoidea-zellen (24) wird angenommen, dass Plasmamembranbestandteile in Form von Endozytosebläschen in die Zelle zurücktransportiert werden und später wieder in den Golgi Apparat eingebaut werden können. Untersuchungen mit der Gefrierätzmethode an adeno-matösen PT-Zellen ergaben ebenfalls einen Hinweis für endo-zytotische Vorgänge (68).

Die Summe aus der Oberfläche von Golgi Apparat pro durchschnittlicher PT-Zelle und Zelloberfläche ergeben auffällig ähnliche Zahlen. Möglicherweise sind die Summenkonstanz und die Tatsache, dass unter dem Einfluss von Vitamin D und Ca-Gluconat der Golgi Apparat vergrößert (zwar statistisch nicht signifikant) wurde, Hinweise für das angenommene "membrane retrieval".

4.4.3. Rauhes endoplasmatisches Retikulum

Versuche in vivo (1, 4, 6, 7, 10) ergaben, dass sich der RER-Anteil im Zytoplasma durch länger dauernde Hypercalcämie vermindert. Dietel et al. (25) haben in Organkultur nachgewiesen, dass $1.25(\text{OH})_2\text{D}_3$ sowohl die Synthese wie die Sekretion von PTH hemmt, und dass die ersten morphologischen Zeichen einer Hemmung der Hormonsekretion (Abnahme von Golgi Apparat und RER) nach 4h erscheinen. In diesem Versuch wurde die Reduktion von RER-Oberfläche und Volumen pro durchschnittlicher PT-Zelle erst nach 72h statistisch signifikant. Da das RER der Ort der Biosynthese des Parathormons ist (35, 36, 37), kann diese Verminderung als Zeichen reduzierter Hormonsynthese betrachtet werden.

4.5. Serum-Kalzium

Nach 72h Vitamin D_3 und Ca-Gluconat war die Serum-Kalzium-Konzentration statistisch signifikant höher als bei der Kontrollgruppe (Tab. 5).

Dieses Resultat stimmt überein mit demjenigen von Fricsay (30), der ebenfalls 72h nach einer einmaligen Applikation von Vitamin D_3 an Ratten den höchsten Serum-Kalzium-Spiegel gemessen hat.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Die ultrastrukturellen Aenderungen der Parenchymzellen der Gl. parathyreoidea von Ratten wurden 6h, 24h und 72h nach einer einmaligen, intramuskulären Injektion von Vitamin D₃ morphometrisch untersucht. Die Kontrollgruppe sowie eine der beiden Gruppen, die 72h p.i. untersucht wurde, erhielten Trinkwasser, alle andern Gruppen 0.15 M Kalzium-Gluconatlösung ad libitum.

6h p.i. wurden im Vergleich zur Kontrollgruppe keine signifikanten Unterschiede festgestellt.

24h p.i. war, ausgedrückt pro Durchschnittszelle, die Zelloberfläche reduziert und, ausgedrückt pro 1 mm³ Gewebe Volumen und Oberfläche des Golgi Apparates erhöht.

72h p.i. mit Zugabe von Kalzium-Gluconat war das durchschnittliche Zellvolumen und der relative Anteil des Interstitiums geringer und somit die Gl. parathyreoidea kleiner als bei der Kontrollgruppe.

72h p.i. ohne Zugabe von Kalzium-Gluconat hatte sich das Interstitium auf Kosten der Parenchymzellen verbreitert, die Gl. parathyreoidea war gleich gross wie bei der Kontrollgruppe.

Die Faltung der Plasmamembran und die Ausbildung von Golgi Apparat und RER gelten als Parameter für die sekretorische Aktivität der Parathyreoideazellen. Es wird gezeigt, dass die Parathyreoideazellen unter dem Einfluss von Vitamin D₃ in ihrer sekretorischen Funktion gehemmt werden. Die direkte und indirekte Wirkung von Vitamin D₃ (über den Umweg der erhöhten Serum-Kalzium-Konzentration) werden diskutiert.

6. LITERATUR

1. Altenähr, E. (1970)
Zur Ultrastruktur der Rattenepithelkörperchen bei Normo-, Hyper- und Hypocalcämie. Applikation von Parathormon, Thyreocalcitonin, Dihydrotachysterin, Glycerophosphat und verschiedener Diät.
Virchow Arch (Path Anat), 351, 122-141
2. Altenähr, E., Dietel, M., Dorn, G. and Montz, R. (1977)
The effect of 1.25-dihydroxycholecalciferol on parathyroid glands and human parathyroid adenomas in vitro.
Acta Endocr, 86, 533-538
3. Altenähr, E. and Kampf, E. (1976)
Parathyroid function in rats treated with growth hormone. A morphometric study.
Virchow Arch (Path Anat), 371, 363-371
4. Black, H.E., Capen, C.C. and Arnaud, C.D. (1973)
Ultrastructure of parathyroid glands and plasma immunoreactive parathyroid hormone in pregnant cows fed normal and high calcium diets.
Lab Invest, 29, 173-185
5. Blum, J.W., Fischer, J.A., Guillebeau, A., Hunziker, W.H., Binswanger, U., Picotti, G.B. and Da Prada, M. (1978)
Parathyroid hormone responses to catecholamines and to changes of extracellular calcium in cows.
J Clin Invest, 61, 1113-1122
6. Boquist, L. (1975a)
Parathyroid morphology in gerbils after calcium and parathormone administration.
Horm Metab Res, 7, 261-266

7. Boquist, L. and Fahraeus, B. (1975b)
Parathyroid morphology in gerbils after thyroidectomy and calcium administration.
Acta Path Microbiol Scand (A), 83, 539-549
8. Boquist, L. and Lundgren, E. (1975c)
Effects of variations in calcium concentration on parathyroid morphology in vitro.
Lab Invest, 33, 638-647
9. Brown, E.M., Hurwitz, S. and Aurbach, G.D. (1977)
Beta-adrenergic stimulation of cyclic AMP content and parathyroid hormone release from isolated bovine parathyroid cells.
Endocrinology, 100, 1696-1702
10. Brumbaugh, P.F., Hughes, M.R. and Haussler, M.R. (1975)
Cytoplasmic and nuclear binding components for 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in chick parathyroid glands.
Proc Nat Acad Sci USA, 72, 4871-4875
11. Canterbury, J.M., Lerman, S., Claflin, A.J., Henry, H., Norman, A. and Reiss, E. (1978)
Inhibition of parathyroid hormone secretion by 25-hydroxycholecalciferol and 24,25-dihydroxycholecalciferol in the dog.
J Clin Invest, 61, 1375-1383
12. Capen, C.C. (1980)
Parathyroid hormone, calcitonin, and cholecalciferol: The calcium regulating hormones.
In: *Veterinary Endocrinology and Reproduction*, 3rd ed., McDonald, L.E., Lea and Febiger, Philadelphia, pp 62-114

13. Capen, C.C. and Young, D.M. (1967)
The ultrastructure of the parathyroid glands and thyroid para-follicular cells of cows with parturient paresis and hypocalcemia.
Lab Invest, 17, 717-737
14. Chertow, B.S., Baker, G.R., Henry, H.L. and Norman, A.W. (1980)
Effects of vitamin D metabolites on bovine parathyroid hormone release in vitro.
Amer J Physiol, 238, E384-E388
15. Chertow, B.S., Baylink, D.J., Wergedal, J.E., Su, M.H.H. and Norman, A.W. (1975a)
Decrease in serum immunoreactive parathyroid hormone in rats and in parathyroid hormone secretion in vitro by 1.25-di-hydroxycholecalciferol.
J Clin Invest, 56, 668-678
16. Chertow, B.S., Buschmann, R.J. and Henderson, W.J. (1975b)
Subcellular mechanisms of parathyroid hormone secretion. Ultrastructural changes in response to calcium, vitamin A, vinblastine, and cytochalasin B.
Lab Invest, 32, 190-200
17. Chertow, B.S., Williams, G.A., Baker, G.R., Surbaugh, R.D. and Hargis, G.K. (1975c)
The role of subcellular organelles in hormone secretion. The interactions of calcium, vitamin A, vinblastine, and cytochalasin B in PTH secretion.
Exp Cell Res, 93, 388-394

18. Chertow, B.S., Williams, G.A., Norris, R.M., Baker, G.R. and Hargis, G.K. (1977)
Vitamin A stimulation of parathyroid hormone: interactions with calcium, hydrocortisone, and vitamin E in bovine parathyroid tissues and effects of vitamin A in man.
Europ J Clin Invest, 7, 307-314
19. Cloix, J.F., Ulmann, A., Bachelet, M. and Funck-Brentano, J.L. (1976)
Cholecalciferol metabolites binding in porcine parathyroid glands.
Steroids, 28, 743-749
20. Collins, W.T., Capen, C.C., Döbereiner, J. and Tokarnia, C.H. (1977)
Ultrastructural evaluation of parathyroid glands and thyroid C cells of cattle fed solanum malacoxylon.
Amer J Path, 87, 603-614
21. Deftos, L.J. and Parthemore, J.G. (1974)
Secretion of parathyroid hormone in patients with medullary thyroid carcinoma.
J Clin Invest, 54, 416-420
22. De Hoff, R.T. and Rhines, F.N. (1961)
Determination of the number of particles per unit volume from measurements made in random plane sections: The general cylinder and the ellipsoid.
Trans Metall Soc, AIME, 221, 975-982
23. DeLuca, H.F. and Holick, M.F. (1979)
Vitamin D: Biosynthesis, metabolism, and mode of action.
In: Endocrinology, Vol 2
De Groot, L.J., Cahill, G.F., Martini, L., Nelson, D.H., Odell, W.D., Potts, J.T., Steinberger, E. and Winegrad, A.I.
Grune & Stratton, New York, San Francisco, London, pp 653-668

24. Deneff, J.-F. and Ekholm, R. (1980)
Membrane labeling with cationized ferritin in isolated thyroid follicles.
J Ultrastruct Res, 71, 203-221
25. Dietel, M., Dorn, G., Montz, R. and Altenähr, E. (1979)
Influence of vitamin D₃, 1,25-dihydroxyvitamin D₃, and 24,25-dihydroxyvitamin D₃ on parathyroid hormone secretion, adenosine 3', 5'-monophosphate release, and ultrastructure of parathyroid glands in organ culture.
Endocrinology, 105, 237-245
26. Farquhar, M.G. (1978)
Recovery of surface membrane in anterior pituitary cells. Variations in traffic detected with anionic and cationic ferritin.
J Cell Biol, 77, R35-R42
27. Fischer, J.A., Binswanger, U., Fanconi, A., Illig, R., Baerlocher, K. and Prader, A. (1973a)
Serum parathyroid hormone concentrations in vitamin D deficiency rickets of infancy: Effects of intravenous calcium and vitamin D.
Horm Metab Res, 5, 381-385
28. Fischer, J.A., Blum, J.W. and Binswanger, U. (1973b)
Acute parathyroid hormone response to epinephrine in vivo.
J Clin Invest, 52, 2434-2440
29. Fischer, J.A., Oldham, S.B., Sizemore, G.W. and Arnaud, C.D. (1971)
Calcitonin stimulation of parathyroid hormone secretion in vitro.
Horm Metab Res, 3, 223-224

30. Fricsay, M. (1960)
Blutchemische Werte in Rattensera nach Vitamin D₃-Gabe bei wechselndem Ca- und P-Gehalt der Nahrung.
Path et Microbiol, 23, 249-254
31. Fucik, R.F., Kukreja, S.C., Hargis, G.K., Bowser, E.N., Henderson, W.J. and Williams, G.A. (1975)
Effect of glucocorticoids on function of the parathyroid glands in man.
J Clin Endocr, 40, 152-155
32. Gardner, D.G., Brown, E.M., Windeck, R. and Aurbach, G.D. (1978)
Prostaglandin E₂ stimulation of adenosine 3', 5'-monophosphate accumulation and parathyroid hormone release in dispersed bovine parathyroid cells.
Endocrinology, 103, 577-582
33. Gardner, D.G., Brown, E.M., Windeck, R. and Aurbach, G.D. (1979)
Prostaglandin F₂ inhibits 3', 5'-adenosine monophosphate accumulation and parathyroid hormone release from dispersed bovine parathyroid cells.
Endocrinology, 104, 1-7
34. Giger, H. und Riedwyl, H. (1970)
Bestimmung der Grössenverteilung von Kugeln aus Schnittkreisradien.
Biometrisches Zeitschrift, 12, 156-162
35. Habener, J.F. (1981)
Regulation of parathyroid hormone secretion and biosynthesis.
Ann Rev Physiol, 43, 211-223

36. Habener, J.F., Amherdt, M., Ravazzola, M. and Orci, L. (1979)
Parathyroid hormone biosynthesis. Correlation of conversion
of biosynthetic precursors with intracellular protein migration
as determined by electron microscope autoradiography.
Cell Biol, 80, 715-731
37. Habener, J.F., Kemper, B.W., Rich, A. and Potts, J.T. (1977)
Biosynthesis of parathyroid hormone.
Rec Prog Horm Res, 33, 249-299
38. Habener, J.F. and Potts, J.T. (1976)
Relative effectiveness of magnesium and calcium on the secretion
and biosynthesis of parathyroid hormone in vitro.
Endocrinology, 98, 197-202
39. Hargis, G.K., Williams, G.A., Reynolds, W.A., Chertow, B.S.,
Kukreja, S.C., Bowser, E.N. and Henderson, W.J. (1978)
Effect of somatostatin on parathyroid hormone and calcitonin
secretion.
Endocrinology, 102, 745-750
40. Harney, A.N., Kukreja, S.C., Hargis, G.K., Johnson, P.A.,
Bowser, E.N. and Williams, G.A. (1978)
Effect of long-term administration of epinephrine and propranolol
on serum calcium, parathyroid hormone, and calcitonin
in the rat.
Proc Soc Exp Biol, 159, 266-269
41. Hebel, R. and Stromberg, M.W. (Editors), (1976)
Anatomy of the Laboratory Rat.
The Williams & Wilkins Company, Baltimore, USA, p85

42. Henry, H.L. and Norman, A.W. (1975)
Studies on the mechanism of action of calciferol VII.
Localization of 1.25-dihydroxyvitamin D₃ in chick parathyroid glands.
Biochem Biophys Res Commun, 62, 781-788
43. Herzog, V. and Farquhar, M.G. (1977)
Luminal membrane retrieved after exocytosis reaches most golgi cisternae in secretory cells.
Proc Natl Acad Sci USA, 74, 5073-5077
44. Holmlund, D., Boquist, L., Larsson, S.-E. and Lorentzon, R. (1979)
Influence of 1.25-dihydroxycholecalciferol on parathyroid activity in patients with primary hyperparathyroidism.
Acta Chir Scand, 145, 27-33
45. Hughes, M.R. and Haussler, M.R. (1978)
1.25-dihydroxyvitamin D₃ receptors in parathyroid glands.
Preliminary characterization of cytoplasmic and nuclear binding components.
J Biol Chem, 253, 1065-1073
46. Jubiz, W., Canterbury, J.M., Reiss, E. and Tyler, F.H. (1972)
Circadian rhythm in serum parathyroid hormone concentration in human subjects: Correlation with serum calcium, phosphate, albumin and growth hormone levels.
J Clin Invest, 51, 2040-2046
47. Kripke, D.F., Lavie, P., Parker, D., Huey, L. and Deftos, L.J. (1978)
Plasma parathyroid hormone and calcium are related to sleep stage cycles.
J Clin Endocrinol, 47, 1021-1027

48. Kukreja, S.C., Johnson, P.A., Ayala, G., Banerjee, P., Bowser, E.N., Hargis, G.K. and Williams, G.A. (1976)
Role of calcium and beta-adrenergic system in control of parathyroid hormone secretion.
Proc Soc Exp Biol, 151, 326-328
49. Lancer, S.R., Bowser, E.N., Hargis, G.K. and Williams, G.A. (1976).
The effect of growth hormone on parathyroid function in rats.
Endocrinology, 98, 1289-1293
50. Larsson, S.-E., Ahlgren, O. and Lorentzon, R. (1977)
The role of parathyroids for the adaption to a low calcium intake.
Acta Chir Scand, 143, 229-236
51. Lever, J.D. (1958)
Cytological appearances in the normal and activated parathyroid of the rat. A combined study by electron and light microscopy with certain quantitative assessments.
J Endocr, 17, 210-217
52. Licata, A.A., Au, W.Y., Vera, J. and Bartter, F.C. (1979)
Effects of prostaglandin E_1 on the metabolism in rat parathyroid gland in vitro.
Biochem Biophys Acta (Amst), 582, 59-66
53. Llach, F., Coburn, J.W., Brickman, A.S., Kurokawa, K., Norman, A.W., Canterbury, J.M. and Reiss, E. (1977)
Acute actions of 1.25-dihydroxyvitamin D_3 in normal man: Effect on calcium and parathyroid status.
J Clin Endocr, 44, 1054-1060

54. MacGregor, R.R., Hamilton, J.W. and Cohn, D.V. (1975)
The by-pass of tissue hormone stores during the secretion
of newly synthesized parathyroid hormone.
Endocrinology, 97, 178-188
55. Meldolesi, J. (1974)
Dynamics of cytoplasmic membranes in guinea pig pancreatic
acinar cells. I. Synthesis and turnover of membrane proteins.
J Cell Biol, 61, 1-13
56. Nordmann, J.J. and Dreifuss, J.J. (1974)
Secretion-dependent uptake of extracellular fluid by the
rat neurohypophysis.
Nature, 250, 155-157
57. Nordmann, J.J. and Morris, J.F. (1976)
Membrane retrieval at neurosecretory axon endings.
Nature, 261, 723-725
58. Novikoff, A.B. and Holtzmann, E. (1976)
in: Cells and Organelles, p99
Holt, Rinehart and Winston, New York
59. Oldham, S.B., Fischer, J.A., Capen, C.C., Sizemore, G.W.
and Arnaud, C.D. (1971)
Dynamics of parathyroid hormone secretion in vitro.
Amer J Med, 50, 650-657
60. Oldham, S.B., Smith, R., Hartenbower, D.L., Henry, H.L.,
Norman, A.W. and Coburn, J.W. (1979)
The acute effects of 1.25-dihydroxycholecalciferol on serum
immunoreactive parathyroid hormone in the dog.
Endocrinology, 104, 248-254

61. Pelletier, G. (1973)
Secretion and uptake of peroxydase by rat adenohypophyseal cells.
J Ultrastruct Res, 43, 445-459
62. Pike, J.W., Gooz , L.L. and Haussler, M.R. (1980)
Biochemical evidence for 1.25-dihydroxyvitamin D receptor macromolecules in parathyroid, pancreatic, pituitary, and placental tissues.
Life Sci, 26, 407-414
63. Roth, S.J. and Capen, C.C. (1974)
Ultrastructural and functional correlations of the parathyroid gland.
Int Rev Exp Path, 13, 161-221
64. Roth, S.J. and Raisz, L.G. (1964)
Effect of calcium concentration on the ultrastructure of rat parathyroid in organ culture.
Lab Invest, 13, 331-345
65. Roth, S.I. and Raisz, L.G. (1966)
The course and reversibility of the calcium effect on the ultrastructure of the rat parathyroid gland in organ culture.
Lab Invest, 15, 1187-1211
66. Tanaka, Y., DeLuca, H.F., Ghazarian, J.G., Hargis, G.K. and Williams, G.A. (1979)
Effect of vitamin D and its metabolites on serum parathyroid hormone levels in the rat.
Mineral Electrolyte Metab, 2, 20-25
67. Targovnik, J.H., Rodman, J.S. and Sherwood, L.M. (1971)
Regulation of parathyroid hormone secretion in vitro:
Quantitative aspects of calcium and magnesium ion in control.
Endocrinology, 88, 1477-1482

68. Thiele, J. (1980)
Changes in the plasma membrane associated with endocrine activity.
Virchow Arch (Path Anat), 34, 219-237
69. Walters, M.R., Hunziker, W. and Norman, A.W. (1981)
Ubiquitous effects of the vitamin D endocrine system.
TIPS, 2, 42-44
70. Wecksler, W.R., Ross, F.P., Mason, R.S., Posen, S. and Norman, A.W. (1980)
Biochemical properties of the 1.25-dihydroxyvitamin D₃ cytoplasmic receptors from human and chick parathyroid glands.
Arch Biochem, 201, 95-103
71. Weibel, E.R. (1979)
Stereological methods, Vol. 1: Practical methods for biological morphometry.
Academic Press, London, New York, Toronto, Sydney, San Francisco
72. Weibel, E.R. (1980)
Stereological methods, Vol. 2: Theoretical foundations.
Academic Press, London, New York, Toronto, Sydney, San Francisco
p148
73. Weibel, E.R. and Gomez, D.M. (1962)
A principle for counting tissue structures on random sections.
J Appl Physiol, 17, 343-348
74. Windeck, R., Brown, E.M., Gardner, D.G. and Aurbach, G.D. (1978)
Effect of gastrointestinal hormones on isolated bovine parathyroid cells.
Endocrinology, 103, 2020-2026

7. DANKESADRESSEN

Folgenden Damen und Herren danke ich für ihre Mitarbeit herzlich:

Herrn Dr. P. Wild für die Ueberlassung des Themas und die
Ueberwachung der experimentellen Arbeit

Herrn Prof. Dr. J. Frewein für das Referat

Herrn Prof. Dr. E. Jenny für das Korreferat und wertvolle
Diskussionen

Frau E. Manser für die technische Assistenz bei der Durch-
führung der experimentellen Arbeiten

Herrn Dr. E. Eggenberger für die Beratung in statistischen Fragen

Frau B. Bachmann für die Reinschrift des Manuskriptes

8. LEBENS LAUF

Gloor Susanna, geboren am 24. Dezember 1955 in Wildegg (AG),
Bürgerin von Zofingen (AG)

1962 - 1967	Gemeindeschule in Möriken (AG)
1967 - 1971	Bezirksschule in Lenzburg (AG)
1971 - 1974	Aargauische Kantonsschule in Aarau
1974	Matura Typus C
1974 - 1979	Studium der Tiermedizin an der Veterinär- Medizinischen Fakultät der Universität Zürich
1979	Eidgenössisches Staatsexamen als Tierärztin
1980	Assistentin und Doktorandin am Veterinär- Anatomischen Institut der Universität Zürich
seit 1980	Assistentin am Institut für Veterinär- pathologie der Universität Zürich

